香蕉種原保存與管理

鄧 澄 欣
台灣香蕉研究所

前 言

香蕉是熱帶果樹，屬高大型草本植物。東南亞地區香蕉種類繁多，資源豐富，公認爲香蕉起源中心。一般食用香蕉爲三倍體，高度不育，不具種子，不易透過雜交育種予以改良。因此，引種與馴化仍是香蕉品種改良的主要途徑之一。本省位於亞熱帶，屬香蕉生產邊緣區域，重要香蕉栽培種均從別地引入。爲求擴大選種來源，自 1967 年，前後透過園藝考察團或農技人員從國外三十多個地區引進 174 個品種。其後因香蕉組織培養技術的建立，加速香蕉種原的交換。先後自澳洲、泰國、比利時等地引進 41 個品種。到目前，本所共保存 195 個香蕉種原。爲避免種原的流失，本所曾採用田間、溫室及試管等不同方式，加以保存。本文討論有關國內外香蕉種原保存的方法及其管理上應注意事宜。

種子保存法(Seed gene bank)

兩倍體野生種香蕉具種子。但香蕉種子種皮厚而木質化，發芽率偏低且不耐儲藏。一般種子儲藏法均不適用於香蕉種原保存。近年來根據 University Pertanian Malaysia 的研究，採用適當的技術，香蕉種子可作長期保存(William, 1986)，成爲保存香蕉野生種基因庫的有效途徑。

田間保存法(Field gene bank)

香蕉栽培種不具種子，均以無性繁殖法進行繁殖，在適當條件下，以吸芽爲種植材料，易於成活。故許多地方，均在田間進行香蕉種原保存。估計全球有 42 個香蕉田間種原庫,分別設在 33 個國家。台灣香蕉研究所與嘉義農業試驗分所合作，在嘉義設置香蕉田間保存庫，保存 178 個品種，以宿根栽培，由專人負責管理。

香蕉田間保存庫比較容易建立，除注意種原庫的地理氣候條件外，只需小心管理，即可作長期保存。此外，田間保存的植株，遺傳性穩定，變異機會少，並可觀察調查其生長習性及園藝特性，作爲種原利用的參考。然而田間保存佔地面積較大，管理上費工並受氣候環境及病蟲爲害而有損失的危險。因此，香蕉保存園需要隔離，根絕黃葉病及線蟲入侵，對象鼻蟲及蚜蟲傳播的病毒病害(例如香蕉萎縮病及嵌紋病)必需加以防範；並經常噴藥及切除病葉，減少葉斑病及黑星病爲害。因此，香蕉田間種原庫不宜過大，不應超過 250 個品種(William, 1986)，每品種種 3-4 株。

除田間外，香蕉種原可以網室盆栽進行保存，佔地面積較小，管理較易，雖不能觀察其生長特性，但可達保存的目的。

試管保存法(*In vitro* gene bank)

自 1972 年香蕉莖端組織培養技術由國立台灣大學研發成功(馬和許，1972)，此技術除用於微體繁殖外，更被用作種原保存及交換。利用試管保存法，佔用空間較小；同時節省田間管理，不受天然災害引致損失；保存材料大多數不帶病害(disease free)，易於大量繁殖，並促進種原交換的方便及安全；適合無性繁殖作物的種原作中及長期保存。香蕉種原試管保存法有下列數種：

1.常溫保存法(Normal growth conservation)

自 1986 年，本所為確保所收集之香蕉種原的安全，特闢試管種原庫，配合田間保存互通有無。保存條件與一般香蕉微體繁殖法相同。即以香蕉吸芽為原始材料，經無菌處理過程切採莖頂分生組織(約 1 立方公分)置於含 5 mg/l BA 的改良 MS 培養基。培養溫度為 27℃，光照 2,000 Lux。經初步繁殖後，每品系以 5-10 支試管保存，每 3-4 個月進行培養基更新。此法保存的植株生長正常，繁殖快速，但必需經常更換培養基，比較耗時費工，同時增加污染及產生變異的機會。故只適用於短期保存(active gene bank)。

2.低溫保存法(Low temperature conservation)

組織培養的生長速度可藉調整培養基的配方，溫度的調節，或利用碳源滲透壓的改變來加以控制。1985 年 Banerjee 及 de Langhe 以改良 MS 基本培養基加0.18 mg/l IAA 及 2.3 mg/l BA 比較 8 個不同種類的香蕉在 5、10及15℃ 下保存的效果。結果顯示在 15℃ 及 1,000 Lux 的條件下，這些香蕉栽培種可保存至 13-17 個月仍保持生命力。同年，國際香蕉/ 菜蕉改進協會(INIBAP)在比利時魯汶大學設立全球性香蕉保存中心(Schoofs, 1989)，即以此法保存 1,050 個品系。本所自 1993 年與 INIBAP 合作，在本所成立亞太地區香蕉種原複製保存中心(鄧, 1995)，並參照比利時種原保存中心的系統，於 1994 年初完成低溫保存庫。每品系以 12 支試管在 16-17℃ 及 1000 Lux 光照下進行保存，每月檢查確保植株生長正常。此法可使更新培養的時間延長至12個月。因此低溫保存法可減少培養基更新次數，節省人力，減少變異。使用此法仍須注意下列事宜：

(1)在低溫保存庫加裝切電系統以免因機器故障導致溫度過高或過低，損害種原。

(2)必須經常檢查，注意污染，黃化或玻璃化等異常情況。淘汰不正常植株。若某品系試管數低至 6 支，即移至常溫培養室，進行更新培養。

(3)不同基因型的香蕉對低溫培養的忍受程度有所差異，故須留意處理。

(4)為免意外，每次更新或增殖，每品系分兩梯次進行。

(5)每試管之植株盡量保存其頂芽，維持植株粗壯，過多的不定芽於更新時切除。

(6)利用 ELISA 方法進行病毒檢疫，確保種原不帶病毒。

3.核糖保存法(Slow growth conservation)

根據 Ko *et al* (1991)報導，利用核糖(ribose)溶液可保存華蕉(Cavendish)莖頂分生組織達 24 個月，成為香蕉保存新技術。其方法如下：以紗布包裹 1.5 g 棉花，置於培養瓶或試管中，注入 3% 核糖溶液密封後，消毒備用。把分切後之莖頂組織置於正常培養基中 16 天後，移至含核糖溶液的瓶中，置於 17℃ 生長箱內，並給于連續光照，作長期保存。試驗結果顯示，以上述方法保存，經 10 個月所有分生組織仍保持白色小芽，經接種於正常培養基及培養條件，均能恢復正

常生長。保存至 16 個月，成活率仍達 83%，在另一試驗，保存至 24 個月，成活率爲 33 至 67 %。此法的保存效率比 Banerjee 及 de Langhe 的低溫保存法更佳。

4.冷凍保存法(Cryopreservation)

在超低溫(-196℃)的情況下，細胞水分無法利用，一切生化作用停止，細胞不再生長。因此，冷凍保存法可用作種原長期保存，香蕉冷凍保存法曾被應用於合子胚(Zygotic embryo) (Abdelnour *et al.,* 1992)、胚性細胞懸浮液及莖頂分生組織(Panis *et al.,* 1992; Panis, 1995)其中以莖頂分生組織的保存法可行性較高，其方法如下：

(1)材料：從增殖中的分生組織切取大小爲 5 mm 方塊。

(2)前處理：把分生組織置於含 0.3-0.5 M 蔗糖(Sucrose)的生長培養基中培養 2-4 星期。

(3)儲存：切取 3 mm 方塊置於冷凍管中，並保存於液態氮(-196℃)中。

(4)解凍：經保存於液態氮後，取冷凍管置於 40℃ 的溫水槽急速解凍。

(5)再生：置於固體培養基中再生。

根據 Panis(1995) 的報導，9 個不同基因型的香蕉品種以此法保存後的成活率爲 7-58%。此法簡單有效；植株直接再生，不需經過癒合組織的階段，因此，實用性較高。

結　語

香蕉種原可利用多種方法保存，各有利弊。其中以田間及試管低溫保存法最被廣泛使用。爲確保種原的安全必須按實際情況，酌量採用兩個或兩個以上的方法，同時進行。在可能範圍內，在不同地點設立備份保存庫。有關香蕉種原的長期保存，仍須加强研究，提高成活率，才能達到實用目的。

誌　謝

本所香蕉種原保存多年來承蒙台灣省農業試驗所及嘉義農業試驗分所協助，使田間保存得以持續，致上萬份謝意。行政院農業委員會的指導及經費補助，謹此致謝。

參考文獻

1.馬溯軒、許圳塗. 1972. 香蕉幼莖切頂組織培養應用於不定芽誘發研究. 中國園藝 18:135-142。

2.劉運宇. 1986. 果樹引種馴化. 亞洲出版社，台灣。

3.鄧澄欣. 1995. 亞太地區香蕉種原複製保存中心的建立與運作. 中國園藝 41(2):144-146。

4.Abdelnour-Esquivel, A., A. Mora and V. Villalobos. 1992. Cryoperservation of zygotic embryos of *Musa acuminata* (AA) and *Musa balbisiana* (BB). Cryo-Letters 13:159-164.

5.Banerjee, N. and E. de Langhe. 1985. A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (Banana and plantain). Plant Cell Reports 4:351-354.

6.Charrier, A., J. Dereuddre and F. Engelmann. 1988. The implications of biotechnolgy in germplasm

conservation and utilization. In: Ng, N.Q. *et al* (eds), 'Crop Genetic Resources of Africa' Vol II. Proceedings of an International Conference on Crop Genentic Resources of Africa, held at Ibadan, Nigeria, October 17-20, 1988. IBPGR, Rome. pp.279-286.

7.Ko, W.H., S.C. Hwang and F.M. Ku. 1991. A new technique for storage of meristem-tip cultures of 'Cavendish' banana. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 25:179-183.

8.Panis, B. 1995. Cryopreservation of *Musa* germplasm. Informusa 4(1):17-20.

9.Panis, B., D. Dhed'a and R. Swennen. 1992. Freeze-preservation of embryogenic *Musa* suspension cultures. In: 'Conservation of Plant Genes'. Academic Press. pp.183-195.

10.Ruredzo, T.J. and J. Hanson. 1988. *In vitro* conservation. In: Attere, F. et al (eds), 'Crop Genetic Resources of Africa' Vol I. Proceedings of an International Conference on Crop Genentic Resources of Africa, held at Nairobi, Kenya, Sept. 26-30, 1988. IBPGR, Rome. pp.157-164.

11.Schoofs. 1992. Rapid clonal propagation, storage and exchange of *Musa* spp. In: Baker , F.W.G.(ed). 'Rapid Propagation of Fast-growing Woody Species.' Proceedings of a Symposium held in 1989. C. A. B., Wallingford. pp.29-39.

12.Williams, J.T. 1986. Banana and plantain germplasm conservation and movement and needs for research. In: 'Banana and Plantain Breeding Strategies', ACIAR Proceedings No. 21. ACIAR, Canberra. pp.177-181.